

Importancia de los antígenos protéicos de *Mycobacterium leprae*. Uso potencial para el desarrollo de una vacuna contra la lepra

FRANCISCO VEGA-LOPEZ
ERNESTO MACOTELA-RUIZ*

En la revisión se describen las estructuras antigénicas de M. leprae que se consideran importantes para el desarrollo de una vacuna contra la lepra. Se mencionan los productos biológicos actualmente empleados en la vacunación e inmunoterapia de esta enfermedad y se consideran las posibilidades de contar en el futuro con una vacuna efectiva y de bajo costo obtenida mediante técnicas recombinantes de biología molecular. Se inicia esta revisión con la descripción de la epidemiología y el control de la lepra, que constituyen el marco de referencia relevante de esta infección.

CLAVES: *Mycobacterium leprae*, lepra, vacunas.

SUMMARY

The purpose of this review is to describe M. leprae antigenic structures that are considered relevant for the development of a vaccine. Other biological elements presently utilized in vaccination and immune therapy against leprosy are also reviewed, and the possibility of having in the future an effective vaccine obtained at low cost through molecular biology recombinant techniques. This review also describes some epidemiological and control aspects of leprosy within the general framework of the importance of this disease.

KEY WORDS: *Mycobacterium leprae*, leprosy, vaccines.

Francisco Vega-López. Departamento de Ciencias Clínicas. Escuela de Higiene y Medicina Social. Londres, Inglaterra.

* Académico titular. Servicio de Dermatología y Micología Médica. Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social.

1. Introducción

La lepra es una enfermedad granulomatosa crónica producida por la infección con *Mycobacterium leprae*, en presencia de factores individuales y ambientales que no han sido completamente definidos. Este microorganismo se caracteriza como bacilo Gram positivo, ácido-alcohol resistente, que infecta células fagocíticas del sistema inmune y células de Schwann en los nervios periféricos, aunque puede invadir cualquier tejido del cuerpo humano.

Desde los puntos de vista clínico e inmunológico la lepra es una enfermedad compleja. Antes de que a un enfermo se le pueda clasificar como portador de alguno de los tipos de lepra, se deben cumplir exhaustivamente los criterios clínico, epidemiológico, inmunológico, bacteriológico e histopatológico. La clasificación del paciente en etapa temprana de la enfermedad tiene importantes implicaciones terapéuticas, pronósticas y epidemiológicas.

2. Epidemiología y control de la lepra

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, la lepra afecta entre 12 y 15 millones de personas en el mundo y se ha estimado que 1.6 billones se encuentran expuestas al padecimiento y, por lo tanto, representa una población en riesgo de contraer la enfermedad. El 90 por ciento de los casos se encuentran en Asia y África. La India, como país, cuenta con el 20 por ciento del número total de enfermos en el mundo.

En África los enfermos ocupan principalmente las áreas oriental, occidental y central del continente. En América Latina la enfermedad es considerada un problema prioritario de salud pública en todos los países de la región, excepto Chile, donde prácticamente no existe. En los demás la prevalencia varía en un amplio margen de 0.1 hasta 39 casos por 1000 habitantes. Brasil tiene el mayor número de casos, y en México es de 0.1 hasta más de 1 caso por 1000 habitantes con algunas localidades en donde alcanza cifras de hasta 10 casos por 1000 habitantes. El registro nacional de enfermos con lepra cuenta con cerca de 16,000 casos en todo el país y más del 90 por ciento se encuentran distribuidos en 18 entidades federativas de alta endemicidad. La incidencia anual es de aproximadamente 300 casos y se sabe que existe un subregistro considerable por lo que se estima que el número conocido representa el 50 por ciento de las cifras reales. Por otra parte, más del 60 por ciento de los pacientes conocidos en México corresponden a las formas multibacilares de la enfermedad, lo

que tiene implicaciones obvias en la morbilidad del padecimiento.

En Estados Unidos de Norteamérica hay focos endémicos en Texas y Louisiana; en Europa la prevalencia es muy baja (0.03 casos por 1000 habitantes); y en los países escandinavos no se han reportado casos nuevos durante los últimos 40 años.

Los humanos son la única fuente relevante de infección, aunque algunos animales como el armadillo, el chimpancé y el mono mangabey se han encontrado naturalmente infectados. Estos datos no son suficientemente sólidos para sugerir que estos animales en estado salvaje representen un reservorio o una fuente de infección importante para los humanos.

La transmisión de la lepra se lleva a cabo de persona a persona y la parte superior del tracto respiratorio parece ser la puerta de entrada más común. En experimentos con roedores se ha logrado la transmisión por rocio con aerosoles.² Los pacientes con lepra pueden expulsar hasta 10^8 bacilos con las secreciones nasales. La enfermedad también se puede transmitir por contacto directo a través de la piel y por ingerir bacilos.

Se ha sugerido que algunos insectos pueden tener el papel vector en la transmisión de *M. leprae* pero, hasta la fecha, los reportes son esporádicos y no se les concede importancia epidemiológica.¹

Un rasgo peculiar de la lepra es su largo período de incubación lo que constituye un obstáculo para el estudio de su epidemiología. Se han documentado casos de lepra de unos pocos meses hasta cuarenta años después del contacto infectante. No obstante, lo común es que la enfermedad clínica se presente entre dos y cinco años después de la exposición a un caso conocido. La enfermedad afecta principalmente individuos del sexo masculino, y el pico máximo de incidencia es en el grupo etario de 15 a 20 años. A partir de estas observaciones se tiene la certeza de que los niños representan el grupo de máximo riesgo de contraer la enfermedad.¹

A pesar de que no se han establecido todos los factores propicios para contraer lepra se sabe que se requiere del contacto íntimo y prolongado con un paciente para contagiarse. En las áreas endémicas con casos multibacilares (formas lepromatosa polar, dimorfa lepromatosa y dimorfa pura), se estima que un solo paciente puede infectar a 200 o más personas.² Sin embargo no se sabe el número de infectados que posteriormente desarrollan la enfermedad clínica. Los contactos intradomiciliarios tienen seis veces más posibilidades de desarrollar la enfermedad, aunque la mayoría de los casos de lepra no se originarían³ de los casos intradomiciliarios conocidos; esto cuestionaría al modo

de transmisión en la comunidad. La susceptibilidad individual juega un papel esencial para adquirir la enfermedad y se han estudiado diversos mecanismos genéticos e inmunológicos para establecer las razones precisas por las cuales algunos individuos en condiciones ambientales idénticas adquieren la enfermedad mientras que otros permanecen inmunes al padecimiento. El cuerpo de conocimientos, todavía inconcluso, derivado de estos estudios no será discutido en esta revisión. Algunos otros factores tales como nutrición, condiciones de vivienda, saneamiento ambiental, hacinamiento y estado socioeconómico se han identificado como determinantes importantes en la epidemiología de la enfermedad. La lepra ya no se presenta en países desarrollados, mientras que prevalece en los países más pobres, de aquí, que se la considere como una enfermedad de la pobreza.

La distribución en las áreas endémicas presenta un patrón de agrupamiento muy característico (por familias, colonias, comunidades o distritos), hecho que debe tomarse en cuenta al planear y llevar a cabo encuestas epidemiológicas de campo. Como muchas otras enfermedades infecciosas, la lepra es un padecimiento de etiología multifactorial en donde la interacción de *M. leprae*, la respuesta inmune del huésped y los factores ambientales mencionados, son los elementos clave que determinan la persistencia de la enfermedad en la comunidad.

La estrategia para luchar con acciones de salud contra la lepra implica un abordaje multidisciplinario con acciones de salud en niveles internacional, nacional y local. Los objetivos de los programas de control en cualquier área endémica deben dirigirse hacia:

- Convertir al infectante en no infectante.
- Prevenir el daño neurológico y, por tanto, prevenir las deformaciones.
- Reducir la transmisión de la lepra en la comunidad.

Con la finalidad de lograr estos objetivos, todos los pacientes con lepra deben recibir el tratamiento recomendado por la OMS (terapéutica multimedicamentosa con rifampicina, clofazimina y sulfonas). El diagnóstico temprano, la clasificación adecuada y el seguimiento de los casos son factores esenciales para tener éxito en los programas de control. La detección clínica y el tratamiento adecuado de los estados reaccionales también es muy importante. Otras medidas que se deben aplicar en la comunidad son la búsqueda activa de casos, el examen de contactos y la educación para la salud.⁴

Los lectores interesados en aspectos de control

pueden consultar el Manual de Procedimientos Operativos para el Control de la Lepra de la Secretaría de Salud, México 1987, que asimila fundamentos conceptuales y aspectos pragmáticos reconocidos y aceptados internacionalmente.

3. Estructura de *Mycobacterium leprae*

M. leprae es un patógeno intracelular obligado, ácido-alcohol resistente, que no ha sido cultivado hasta la fecha. Debido a esto, las fuentes de bacilos para investigación habían sido tejidos de pacientes infectados, hasta que en 1960 Shepard introdujo el modelo murino y en 1971 Kirchheimer y Storrs el modelo armadillo.

M. leprae es un organismo unicelular que mide en promedio $1.8 \times 0.3 \mu\text{m}$.

La célula se encuentra rodeada de una pared gruesa y compleja, rica en lípidos y carbohidratos. La membrana plasmática está formada por una capa doble de fosfolípidos con terminaciones hidrofílicas hacia afuera; no existe espacio periplásmico. Por fuera la pared celular consiste básicamente de tres componentes: peptidoglucano, arabinogalactano y peptidoglucofólipidos (este último término incluye ácido micólico, micósidos, glucolípidos fenólicos, *cord factor*, sulfolípidos y ptioceroles). Varios modelos esquemáticos sobre la estructura de la pared celular de *M. leprae* han sido publicados por Gaylor y Brennan,⁵ Grange,⁶ y Wheeler.⁷

El genoma de *M. leprae* está formado por un cromosoma circular único que contiene un 56 por ciento de guanina + citosina y un tamaño de 2.2×10^9 Daltons. Con la finalidad de estudiar la estructura y funciones del *M. leprae* se han empleado técnicas de biología molecular. Los principales campos del conocimiento que se benefician de dichos estudios incluyen:

- A) Análisis inmunoquímico de antígenos proteicos.
- B) Análisis de vías metabólicas.
- C) Estudios taxonómicos.
- D) Desarrollo de pruebas diagnósticas.
- E) Desarrollo de nuevas vacunas.
- F) Descripción de moléculas esenciales contra las que se pueden dirigir nuevos agentes terapéuticos.

En 1985 se reportó la construcción de bibliotecas genómicas con secuencias de DNA procedente de *M. leprae* en vectores bacteriófagos, plásmidos y cósmidos y el huésped seleccionado fue *Escherichia coli*.^{8,9} La estrategia consiste en insertar al azar secuencias de

DNA de *M. leprae* en el vector seleccionado, posteriormente éste se usa para infectar una cepa especial de células de *E. coli* que admite la incorporación controlada de secuencias extrañas de DNA y como resultado de la síntesis proteica se obtiene la producción de antígenos de *M. leprae*. Estos antígenos se expresan gracias a la maquinaria de transcripción y traducción de *E. coli*. Varios antígenos protéicos de *M. leprae*, que se describen más adelante, han sido clonados y para algunos de ellos ya se conoce la secuencia de DNA, parcial o totalmente.

3.1 Antígenos compuestos por carbohidratos y lípidos

Los compuestos glucolípidos, glucopeptidolípidos y lipopolisacáridos ricos en trehalosa *cord factor* se cuentan entre los constituyentes más antigénicos del género *Mycobacterium*.² La mayoría de estos antígenos presentan reacción cruzada con sus homólogos dentro del mismo género y algunos de ellos también con los procedentes de *Nocardia* y *Corynebacterium*. Un antígeno específico de *M. leprae*, el glucolípido fenólico I descrito por Brennan y col¹⁰ está formado por un trisacárido que mediante un grupo fenólico está unido a un lípido *phthiocerol*; el residuo del azúcar terminal se ha identificado como la fracción inmunodominante de la molécula. Debido a que este antígeno es altamente inmunogénico y produce una respuesta inmune manifestada por la producción de anticuerpos de clase IGM, ya se está utilizando con fines diagnósticos en casos de lepra multibacilar.¹¹ La respuesta de anticuerpos contra este antígeno en pacientes con lepra es directamente proporcional a la cantidad de bacilos en las lesiones del huésped (Índice Bacteriológico). Debido a esto, la sensibilidad del ensayo diagnóstico disminuye notablemente cuando se usa en casos paucibacilares y no representa por lo tanto el reactivo diagnóstico universal en clínica ni en epidemiología. Recientemente se ha sugerido que este antígeno puede funcionar como factor de virulencia al proteger a *M. leprae* en el microambiente inhóspito desencadenado por la activación de los mecanismos bactericidas en el interior de la célula parasitada.² Se ha demostrado que el glucolípido fenólico I protege a *M. leprae* del estrés oxidativo, uno de los principales mecanismos de defensa dependientes de oxígeno, que se activan en las infecciones intracelulares. Hasta ahora no se ha comprobado si este antígeno induce protección, por el contrario, se sabe que genera supresión *in vitro*.¹² El antígeno lipoarabinomano (LAM) es un lipopolisacárido lábil a los alcalinos que se encuentra distribuido en los géneros *Mycobacterium*, *Nocardia* y *Corynebacterium*,¹³ formado por arabinosa:

manosa (relación 1:0.64), fosfato y glicerol. El estudio de hidrolisados de LAM ha demostrado su gran contenido en aminoácidos (Ala, Asp, Glu, Leu, Lis, Ser)¹⁴ y el antígeno está presente en las preparaciones de tuberculina (PPD). Los pacientes con lepra producen anticuerpos de clase IgG contra este antígeno que presentan reacción cruzada con LAM procedente de otras especies micobacterianas. Debido a esto, LAM no se utiliza como reactivo para diagnóstico de la lepra. Se ha establecido que LAM induce supresión en ensayos de proliferación celular.

Algunos otros antígenos micobacterianos glucolípidos y carbohidratos como el arabinogalactano y los fosfatidil-inositol-manósidos, tienen distribución universal en este género.^{5,15}

3.2 Antígenos compuestos por proteínas.

Mediante inmunoelectroforesis cruzada se han identificado más de veinte componentes antigénicos de *M. leprae*,¹⁶ y los componentes 1 a 5 y 11 fueron definidos como proteínas. Se han reconocido otros antígenos protéicos en el suero de enfermos con lepra a través del estudio de las respuestas de anticuerpo en el espectro clínico.¹⁷ Más recientemente, el uso de electroforesis en gel de poliácridamida en presencia de duodecil-sulfato de sodio (SDS-PAGE) y técnicas de *immunoblotting*, ha permitido describir varias proteínas de acuerdo a su peso molecular en kiloDaltons (kD).¹⁸⁻²² Con el advenimiento de la tecnología de hibridomas y la producción de anticuerpos monoclonales, estos anticuerpos preparados en ratones Balb/c han sido empleados para identificar componentes proteínicos de *M. leprae*.²³ Se han clonado genes que codifican para varias proteínas (70, 65, 36, 28, 18 y 12 kD de peso molecular),^{8,24,25} y para algunos de ellos se conoce ya total o parcialmente, su secuencia en el DNA. Los antígenos recombinantes obtenidos por la aplicación de estas técnicas de biología molecular están siendo empleados experimentalmente *in vitro* e *in vivo* con la finalidad de establecer su papel en la inmunopatogénesis, diagnóstico, protección y potencial para desarrollar una vacuna contra la lepra.

A continuación se describen las características de las principales proteínas de *M. leprae* que han sido estudiadas a partir del aislamiento de secuencias de DNA presentes en una biblioteca genómica construida en el vector bacteriófago lambda gt11 y *E. coli*.

3.2.1 Proteína de 70 kD

Esta proteína de *M. leprae* es sensible a proteasas y es reconocida por el anticuerpo monoclonal L7 de clase

IgG y ha sido identificada también en *M. bovis* y *M. tuberculosis*. Mediante la técnica de *western blot* se demuestra una banda antigénica de este peso molecular al usar mezcla de anticuerpos procedentes de pacientes con lepra lepromatosa.²⁶ Britton y col²⁴ purificaron el antígeno de 70 kD de *M. bovis* y al estudiarlo encontraron que fue reconocido por suero lepromatoso, que estimuló la proliferación de células mononucleares de sangre periférica con la liberación de interferón gamma, y que produjo reacción cutánea de tipo tardío. Estos investigadores describieron la secuencia de los primeros quince residuos de aminoácidos del antígeno e identificaron en él varios epítopes para células T.²¹ Esta proteína se encuentra en las especies micobacterianas con mayor patogenicidad y por eso se la ha sugerido para desarrollar una vacuna y que puede ser reactivo útil para diagnosticar especies patógenas. Pero además tiene también extensa reacción cruzada con proteínas homólogas de la familia de las proteínas de respuesta al estrés (*Heat-Shock-Proteins -HSP-*) de hecho se la considera miembro de esta familia, ampliamente distribuida en procariotes y eucariotes.²⁷

3.2.2 Proteína de 65 kD

Originalmente se describe como componente asociado a la pared celular, sensible al tratamiento con tripsina, y estable al calor. La mayoría de las especies micobacterianas, patógenas y no patógenas la expresan.²⁸ Mediante anticuerpos monoclonales dirigidos contra ella se describen catorce epítopes diferentes en veintiseis especies distintas de micobacterias. Solamente uno de los anticuerpos monoclonales empleados reconoce un epítipo específico para *M. leprae*, mientras que los otros presentan reacción cruzada amplia.²⁹ Otro grupo de investigadores reporta las secuencias de aminoácidos para seis epítopes en este antígeno (cada epítipo consiste de 13 a 35 aminoácidos).³⁰

Young y col³¹ sugieren que debido a las pocas regiones hidrofóbicas en la secuencia de la proteína de 65 kD, es poco probable que sea un componente de la pared celular y demuestran además secuencias homólogas con producto de *E. coli* proponiendo que, de la misma manera, la proteína de 65 kD podría cumplir una función importante en el procesamiento de RNA mensajero, asociada a ribosomas y mecanismos de traducción.

Los antígenos de 65 kD procedentes de *M. leprae* y *M. tuberculosis* son homólogos en 95 por ciento difiriendo únicamente en veintiseis residuos de aminoácidos. Se ha reportado además extensa reacción cruzada de varios epítopes³¹ que incluye los siguientes géneros:³¹

Nocardia asteroides, *Propionibacterium jensenii*, *Neisseria flavescens*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Haemophilus influenzae B*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus caseolyticus*, *Streptomyces albus* y *Actinomyces viscosus*.

Diversos anticuerpos monoclonales preparados contra la proteína micobacteriana de 65 kD, reconocen a la proteína de respuesta al estrés procedente de *E. coli*, que tiene un peso molecular de 60 kD. Young y col²⁷ demostraron que ambos componentes comparten un 60 por ciento de identidad en secuencia de aminoácidos.

Los anticuerpos y células T de pacientes con lepra y tuberculosis reconocen esta proteína de 65 kD. En conclusión, se puede decir que el antígeno de 65 kD no es un protector apropiado para elaborar una vacuna contra la lepra y que puede, por el contrario, proteger a los bacilos de los mecanismos de defensa intracelular y ser un factor de sobrevivencia micobacteriana.²⁷

3.2.3 Proteína de 36 kD.

Esta proteína identificada y aislada por medio de anticuerpos monoclonales se emplea en un ensayo de ELISA para el diagnóstico de la lepra.³² Al parecer este antígeno es un componente de la membrana celular. Varias clonas de células T de pacientes con lepra tuberculoides polar reconocen epítopes específicos y de reacción cruzada en esta proteína.³³ La secuencia del antígeno sólo se conoce parcialmente, se ha usado experimentalmente *in vivo* para investigar su papel protector en el modelo murino y hasta la fecha no hay evidencia de que la inmunización con el antígeno recombinante induzca protección.

3.2.4 Proteínas de 28 kD.

La primera proteína de *M. leprae* con este peso molecular fue identificada por anticuerpos monoclonales, de los cuales SA1.A1B y SA1.B11H son específicos para *M. leprae*.³⁴

Por otra parte, Cheray y col³⁵ reportan la secuencia completa para un antígeno del mismo peso molecular y sugieren que esta proteína se puede localizar en la membrana plasmática o en la pared celular de *M. leprae*. Los anticuerpos y las células T de pacientes con lepra reconocen este antígeno.

3.2.5 Proteína de 18 kD.

Codificando para proteínas de este peso molecular de la biblioteca genómica original, el uso de anticuerpos

monoclonales identifica y aísla cuatro clones de DNA.⁸ La secuencia de nucleótidos ya fue posterior.³⁶ Young y cols.²⁷ reportaron que la secuencia de esta proteína de *M. leprae* es similar a la proteína de respuesta al estrés procedente del frijol de soja que tiene un peso molecular de 17 kD.

Este antígeno de *M. leprae* es reconocido por anticuerpos de pacientes con lepra y por clones de células T procedentes de sujetos inmunes a *M. leprae*.³⁷ Recientemente Dockrell y cols.³⁸ describieron las respuestas de proliferación de linfocitos a este antígeno, observaron que más del 90 por ciento de los contactos sanos de pacientes y el 50 por ciento de enfermos con lepra tuberculoides no tratada, montaron una respuesta proliferativa secundaria a la estimulación con este antígeno. Dado que detectaron un fuerte reconocimiento en el grupo de contactos sanos, probablemente infectados con *M. leprae*, pero sin desarrollo clínico de enfermedad sugirieron que la proteína de 18 kD puede ser relevante en la protección contra la enfermedad y, por lo tanto, debe considerarse como candidata para el desarrollo de nuevas vacunas.

3.2.6 Proteína de 12 kD.

Mediante un abordaje similar al empleado para aislar la proteína de 18 kD, este antígeno de *M. leprae* fue identificado a partir de la biblioteca genómica. Los anticuerpos de pacientes lepromatosos reconocen una banda antigénica de 12 kD de peso molecular en preparaciones sonicadas de *M. leprae*, *M. tuberculosis*, *M. bovis* y BCG mediante la técnica de *immunoblotting*.^{21,22}

Debido a que esta proteína no ha sido clonada, no se sabe si los productos procedentes de las tres especies micobacterianas son proteínas homólogas. Se ha demostrado, sin embargo, que la proteína de 12 kD de *M. leprae* tiene epítopes de células T.

3.2.7 Otras proteínas de *M. Leprae*

Mediante el uso de técnicas de SDS-PAGE e *immunoblotting* se han identificado varios antígenos proteínicos de *M. leprae* en diferentes laboratorios.^{18-20,22} Anticuerpos de clase IgG procedentes de pacientes con lepra de diversos tipos, o de suero hiperinmune de conejo preparado con sonicated de *M. leprae* reconocen tales antígenos. Estos se han descrito en un espectro desde 12 hasta 100 kD de peso molecular, pero hasta que sean clonados, caracterizados y evaluados en estudios funcionales de inmunidad, se podrá definir si juegan algún papel en la inmunopatogénesis de la enfermedad, se

podrá definir si juegan algún papel en la inmunopatogénesis de la enfermedad, si son útiles como reactivos para diagnóstico y si tienen potencial como agentes inmunizantes.

El papel funcional de los antígenos clonados y secuenciados es motivo de estudios recientes. Después de definir su estructura proteínica y secuencia de DNA, se ha iniciado la búsqueda de moléculas con características similares distribuidas ampliamente en células de plantas y animales, y se ha llegado a la conclusión que las proteínas de 70, 65 y 18 kD de peso molecular presentes en *M. leprae* pertenecen a la familia de las proteínas de respuesta al estrés, moléculas altamente conservadas en la evolución, con funciones esenciales en el control de mecanismos genéticos, síntesis de proteínas, crecimiento, diferenciación y reproducción celular. Asimismo parece ser que son relevantes para los mecanismos de procesar y reconocer antígenos.

Las proteínas de *M. leprae* descritas en la sección 3.2 de este artículo, representan sólo una fracción minúscula de los productos sintetizados por la célula bacteriana que ascienden a miles. Es probable que algunas moléculas aún no identificadas por la tecnología actual, sean factores de virulencia o antígenos críticos contra los que se puedan dirigir nuevos agentes terapéuticos. Con la finalidad de extender el estudio de antígenos proteínicos usando técnicas de biología molecular, se han desarrollado otros sistemas de vectores y huéspedes entre los que se incluyen *Streptomyces lividans* y miembros no patógenos del género *Mycobacterium*.

4. Vacunas actuales contra la lepra.

Se han considerado dos poblaciones blanco distintas para el control de la lepra merced a dos estrategias diferentes de intervención inmunológica: A) Inmunoprofilaxis dirigida a la población en riesgo en las áreas endémicas y B) Inmunoterapia para los pacientes anérgicos con lepra.

El uso de BCG como vacuna contra la lepra se reporta con eficacia variable en cuatro áreas endémicas del mundo. En Uganda se observó un 80 por ciento de protección mientras que en Birmania los resultados fueron menos alentadores con sólo un 20 por ciento.³⁹

Convit en Venezuela diseñó una estrategia de inmunoterapia dirigida a pacientes multibacilares con una combinación de BCG mas bacilos muertos de *M. leprae*. En sus resultados describió que el 85 por ciento de los pacientes con lepra dimorfa lepromatosa y el 65 por ciento de los casos lepromatosos polares mejoraron dramáticamente conforme a la evolución clínica, bacte-

riológica, inmunológica e histopatológica.⁴⁰

Los proyectos de vacunación actuales incluyen:

- A) Distrito de Karonga en Malawi.
Uso de BCG sola y BCG + bacilos muertos de *M. leprae*.
- B) Venezuela
Uso de bacilos muertos de *M. leprae* + BCG.
- C) India.
Uso de bacilo ICRC y de *Mycobacterium welchii*.

Debido a las condiciones inherentes a la epidemiología de la lepra, los resultados de estos ensayos no estarán disponibles en el corto plazo. No obstante, la vacunación eficaz contra la lepra representa la estrategia óptima para el control de la enfermedad.

El tratamiento multimedicamentoso en etapa temprana, tomado adecuadamente, es efectivo pero no está exento de efectos tóxicos adversos, su disponibilidad es limitada en las áreas endémicas y hay desarrollo de resistencia secundaria; más importante aún, no es efectivo para aliviar manifestaciones y secuelas neurológicas. Además es común constatar como muchos pacientes no reciben el tratamiento multimedicamentoso en los centros especializados debido a problemas complejos en el ciclo logístico de los medicamentos involucrados.

El uso de vacunas preparadas con mezclas complejas de antígenos crudos, como en el caso de BCG + bacilos muertos de *M. leprae*, dirigido a inducir inmunidad celular contra *M. leprae*, conlleva riesgos. Es posible que algunos sujetos infectados desarrollen reacciones de hipersensibilidad tardía como se observan en los casos dimorfos-tuberculoideos con daño nervioso, hecho también documentado con el uso de BCG sola. Los bacilos muertos de *M. leprae* se obtienen de tejidos infectados de humanos u otros animales, por lo que su disponibilidad es limitada y no se pueden ofrecer para satisfacer la demanda de vacunación masiva en las áreas endémicas. Finalmente, la purificación de estos antígenos al grado de garantizar la ausencia de tejidos contaminantes de donde se extrae *M. leprae*, es un estándar de calidad difícil de alcanzar.

De todo lo expuesto anteriormente se desprende la necesidad de desarrollar vacunas alternativas contra la lepra que induzcan protección, pero que carezcan de los efectos adversos mencionados.

5. Vacunas para el futuro

Es un hecho científico actualmente aceptado, que la rama celular de la respuesta inmune es la responsable

de la protección contra la lepra en el humano. Los linfocitos T reconocen los determinantes antigénicos en la superficie de las células portadoras de antígeno, conjuntamente con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y juegan un papel central en la activación de mecanismos efectores del sistema inmune. Los pacientes con lepra lepromatosa manifiestan anergia y falta de respuesta específica a diversos antígenos de *M. leprae* en ensayos de proliferación celular, así como en la evaluación clínica mediante la prueba de Mitsuda. Por lo tanto es de vital importancia identificar los componentes micobacterianos (i.e. antígenos críticos) que inducen reacciones de hipersensibilidad, supresión de la respuesta inmune y más importante aún, aquellos que confieren protección. Varios de los antígenos clonados y secuenciados de *M. leprae* que se mencionan en esta revisión, portan epítomos para células T. Este es el primer paso en la identificación de moléculas que son candidatos potenciales para producir una vacuna recombinante. Se ha descrito que las vacunas que inducen inmunidad mediada por células, deben incluir sitios inmunodominantes formados por hélices alfa anfipáticas.

Estos sitios parecen ser importantes para la interacción de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y el receptor de células T.⁴¹ Existe la posibilidad de elaborar una vacuna integrada por subunidades que contengan los agentes inmunizantes contra varias enfermedades infecciosas y parasitarias. Ya existen diversas vacunas recombinantes y se utilizan contra hepatitis, paludismo, salmonelosis, cólera, infecciones por Epstein Barr y herpes virus entre otras.⁴²

No obstante, la planta industrial que manufactura productos biológicos contra enfermedades infecciosas para distribución y uso multinacional, no considera dentro de sus prioridades el desarrollo de una vacuna contra la lepra. La población potencialmente consumidora de la supuesta vacuna se encuentra distribuida en países pobres, sin recursos económicos y, desde el punto de vista de mercado, no es estimulante en términos financieros.⁴³ Debido a esta situación, casi el total de la investigación encaminada a producir alternativas inmunizantes contra la lepra se realiza en universidades, institutos y centros de investigación, financiados por organismos de caridad, agencias filantrópicas y/o cuerpos gubernamentales, que no siempre cuentan con recursos suficientes. En este contexto, la investigación aplicada empleando técnicas recombinantes, ha producido en los últimos cinco años los antígenos descritos en esta revisión, que se han empezado a probar experimentalmente *in vitro* e *in vivo* con la finalidad de describir su

potencial para inducir protección y ya se han desarrollado nuevos sistemas de vectores y huéspedes bacterianos con objeto de producir, no exclusivamente antígenos proteicos de *M. leprae*, sino moléculas más complejas que intervienen en procesos metabólicos y sistemas celulares para la supervivencia microbacteriana. La producción recombinante de tales moléculas podría conducir a un mayor conocimiento sobre la fisiología de este bacilo, que por no ser cultivable, no puede estudiarse de manera directa en laboratorios de microbiología. Asimismo, podríamos contar con reactivos para diagnóstico clínico y epidemiológico que también puedan ser usados en el seguimiento biológico de la relación huésped-parásito durante y después del tratamiento de los pacientes. Finalmente, ofrece la posibilidad de tener una vacuna eficaz y de bajo costo que contribuya a eliminar la lepra, enfermedad secular potencialmente erradicable.

Referencias

- WHO: A guide to leprosy control. Geneva, Switzerland, 1988.
- Hastings RC. Leprosy. Clin Microbiol Rev 1988; 1: 330-348.
- Hastings RC. Leprosy. Churchill Livingstone. London, 1985.
- Secretaría de Salud. Dirección General de Medicina Preventiva. Manual de Procedimientos Operativos para el Control de la Lepra. México, 1987.
- Gaylor Hy Brennan PJ. Leprosy and the leprosy bacillus: recent development in characterization of antigens and immunology of the disease. Ann Rev Microbiol 1987; 41: 645-675.
- Grange JM. Mycobacteria and Human Disease. Edward Arnold. London, 1988.
- Wheeler PR y Ratledge C. Metabolism in *Mycobacterium leprae*, *M. tuberculosis* and other pathogenic mycobacteria. Br Med Bull 1988; 44: 547-561.
- Young R. Genes for the major protein antigens of the leprosy parasite *Mycobacterium leprae*. Nature 1985; 316: 450-452.
- Clark-Curtiss JE y cols. Molecular analysis of DNA and construction of genomic libraries of *Mycobacterium leprae* J. Bacteriol 1985; 161: 1093; 302.
- Brennan PJ y Barrow WW. Evidence for species specific lipid antigens in *Mycobacterium leprae*. Int J Lepr 1980; 48: 382; 387.
- Young D y Buchanan TM. A serological test for leprosy with a glycolipid specific for *Mycobacterium leprae*. Science 1983; 221: 1057-1059.
- Mehra V y cols. Lymphocyte suppression in leprosy induced by unique *M. leprae* glycolipid. Nature (London) 1984; 308: 194-196.
- Hunter SW y cols. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. J Biol Chem 1986; 161: 12345; 12351.
- Azuma I y cols. Polysaccharides of *Mycobacterium bovis* Usthi 10 *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium phlei*, and atypical *Mycobacterium*. Infect Immun 1970; 2: 347-349.
- Drpraer P. Leprosy review: the bacteriology of *Mycobacterium leprae*. Tubercle 1983; 64: 43-56.
- Closs O. Antigenic Analysis of *Mycobacterium leprae*. Scand J Immunol 1979; 9: 297-302.
- Caldwell HD. Identification of a *Mycobacterium leprae* specific protein antigen(s) and its possible application for the serodiagnosis of leprosy. Int J Lepr 1979; 47: 477-483.
- Chakrabarti AK. SDS-PAGE analysis of *M. leprae* protein antigens reacting with antibodies from sera lepromatous patients and infected armadillo. Clin exp Immunol 1982; 49: 523-531.
- Klaster PR. Immunohistochemical characterization of *Mycobacterium leprae* antigens by the SDS-polyacrylamide gel electrophoresis immunoperoxidase (SGIP) using patients sera. Clin exp Immunol 1984; 56: 537-544.
- Ehrenber JP y Gebre N. Analysis of the antigenic profile of *Mycobacterium leprae*: cross-reactive and unique specificities of human rabbit antibodies. Scand J Immunol 1987; 26: 673-681.
- Britton WJ. Antigens of *Mycobacterium leprae* identified by immunoprecipitation with sera from leprosy and tuberculosis patients. Clin exp Immunol 1988; 71: 394-398.
- Vega-López F. Recognition of mycobacterial antigens by sera from patients with leprosy. J Clin Microbiol 1988; 26: 2474-2479.
- WHO: Results of a World Health Organization-Sponsored workshop on monoclonal antibodies to *Mycobacterium leprae*. Infect Immun 1985; 48: 603-605.
- Britton WJ. Immunoreactivity of a 70 kD protein purified from *Mycobacterium bovis* BCG by monoclonal antibody affinity chromatography. J Exp Med 1986; 164: 695-708.
- Husson RN y Young RA. Genes for the major protein antigens of *Mycobacterium tuberculosis*: the etiologic agents of tuberculosis and leprosy share an immunodominant antigen. Proc Natl Acad Sci (USA) 1987; 84: 1679-1683.
- Britton WJ. *Mycobacterium leprae* antigens involved in human immune responses. I. Identification of four antigens by monoclonal antibodies. J Immunol 1985; 135: 4171-4177.
- Young D. Stress proteins are immune targets in leprosy and tuberculosis. Proc Natl Acad Sci (USA) 1988; 85: 4267-4270.
- Gillis TP. Immunohistochemical characterization of a protein associated with *Mycobacterium leprae* cell wall. Infect Immun 1985; 49: 371-377.
- Buchanan TM. Characterization of antibody reactive epitopes on the 65 kilodalton protein of *Mycobacterium leprae*. Infect Immun 1987; 55: 587-593.
- Mehra V. Efficient mapping of protein antigenic determinants. Proc Natl Acad Sci (USA) 1986; 83: 7013-7017.
- Young D. The 65 kDa antigen on mycobacteria - a common bacterial protein? Immunol. Today 1987; 8: 215-219.
- Klaster PR. An ELISA-inhibition test using monoclonal antibody for the serology of leprosy. Clin exp Immunol 1985; 62: 468-473.
- Ottenshoff THM. *Mycobacterium leprae*-specific protein antigens defined by cloned human helper T cells. Nature 1986; 319: 66-68.
- Young D. Monoclonal antibodies to a 28,000 mol. wt protein antigen of *Mycobacterium leprae* R. A. A 28-kDa protein from *Mycobacterium leprae* is a target of the human antibody response in lepromatous leprosy. J Immunol 1988; 141: 4370; 4375.
- Cherayil BJ y Young RA. A 28-kDa protein from *Mycobacterium leprae* is a target of the human antibody response in lepromatous leprosy. J Immunol 1988; 141: 4370-4375.
- Both RJ. Antigenic Proteins of *Mycobacterium leprae*. Complete sequence of the gene for the 18-kDa protein. J Immunol 1988; 140: 597-601.
- Mustafa AS. Human T-cell clones recognize a major *M. leprae* protein antigen expressed in *E. coli*. Nature 1986; 319: 63-65.
- Dockrell HM. T cell recognition of the 18kDa antigen of *Mycobacterium leprae*. Infect Immun 1989; 57: 1979-1983.
- Fine PEM. BCG vaccination against tuberculosis and leprosy. Brit Med Bull 1988; 44: 691-703.
- Convit JN. Immunotherapy with a mixture of *Mycobacterium leprae* and BCG in different forms of leprosy and in Mitsuda-negative contacts. Int J Lepr 1982; 50: 415.

41. Berzofsky JA. Features of T-cell recognition and antigen structure useful in the design of vaccines to elicit T-cell immunity. *Vaccine* 1988; 6: 89-93.
42. Forrest BD and Drasar BS. Current Medical Literature. *Infectious diseases* 1989; 3: 63-71.
43. Robbins A and Freeman P. Obstacles to developing vaccines for the Third World. *Sci Am* 1988; 259 (5): 90-95.

EL DIAGNÓSTICO NEUROLÓGICO DE LA MEDUSA

De acuerdo con las leyendas griegas, las Gorgonas eran tres hermanas con garras, largos colmillos y serpientes en la cabeza. La más conocida era Medusa, originalmente una bella joven convertida en ese monstruo por Atenea quien se molestó porque tuvo relaciones sexuales con Poseidón en un templo dedicado a la diosa.

Fue muerta por Perseo, que sabiendo que la mirada de Medusa petrificaba, usó un escudo como espejo para acercársele y decapitarla.

El aneurisma circoide del cuero cabelludo es una malformación arteriovenosa que dá a la cabeza un aspecto grotesco, como si por debajo del cuero cabelludo se encontraran serpientes. Esta enfermedad se presenta después de un traumatismo y es posible que la leyenda griega tenga como origen alguna persona, tal vez una jovencita, en la que se presentó la enfermedad.

Podemos agregar que el cirujano debe ser muy cuidadoso, igual que Perseo, en el manejo de esta entidad, puesto que el riesgo de hemorragia masiva o recidiva es muy alto.

J. H. M. G.



WILDER PENFIELD (1891-1976)

Wilder Graves Penfield nació el año 1891 en Spokane, estado de Washington. Hijo de médico, aseguraba que: *"Lo único claro para mí era el no querer estudiar medicina. Princeton era una buena Universidad porque no tenía Facultad de Medicina"*, añadió Penfield. Graduado "Bachiller en Letras", en 1913 obtuvo la beca Rhodes en la Universidad de Oxford, pero durante los doce meses siguientes se ocupó como entrenador profesional del equipo de fútbol-rugby de Princeton. En el otoño de 1914, Penfield reclamó su beca y fue a Oxford para estudiar medicina como discípulo y amigo de Sir William Osler. Pasó sus vacaciones en Flandes trabajando en un hospital militar francés y en 1916 su barco fue torpedeado cuando cruzaba el canal. Gravemente herido, Penfield volvió a América y acabó sus estudios de medicina en la Universidad Johns Hopkins, donde se doctoró en 1918. Pocos meses después regresó a Oxford, junto a Sherrington, al que sustituyó después de su muerte en 1952.

Los años 1921-28, que pasó en Nueva York, constituyeron el período de aprendizaje de Penfield en neurología y neurocirugía. En 1924 fundó en dicha ciudad el Laboratorio de Neurocitología y durante los cuatro años siguientes el joven neurocirujano, ya maestro en neurología experimental, se dedicó al estudio de la neuropatología.

En 1928 Wilder Penfield recibió la cátedra de Neurología y Neurocirugía en la Universidad McGill de Montreal y fue invitado a fundar un departamento especializado en medicina y cirugía del sistema nervioso y del cerebro. El resultado fue el mundialmente famoso Instituto Neurológico de Montreal abierto en 1934, año en el que Penfield se hizo ciudadano del Canadá.

Durante más de un cuarto de siglo, el profesor Penfield se dedicó al tratamiento quirúrgico de la epilepsia y a la anatomía funcional y fisiología del cerebro. La mayor parte de este período trabajó con el profesor Herbert Jasper. Los resultados de esta fecunda colaboración se vieron en las muchas publicaciones científicas que fueron reunidas y comentadas en su gran obra *Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain*. Una colección de minuciosas observaciones hechas sobre el cerebro humano viviente durante la exploración quirúrgica: localizaciones cerebrales, actividad eléctrica de la corteza normal en diferentes regiones, circulación cerebral y alteraciones locales durante las descargas epileptiformes, variedad y causas de las lesiones estructurales, localización exacta por procedimientos eléctricos de los focos epileptógenos en el *córtex* anormal colindante; método electrocardiográfico que permite realizar extirpaciones correctas, sin lesionar los centros del lenguaje (delimitación exacta de su posición, por interrupción eléctrica de la palabra).

Con la edad, Penfield dejó de ser jefe neurocirujano del Royal Victoria Hospital, pero continuó como cirujano activo; abandonó su cátedra de neurología y neurocirugía en la Universidad McGill, pero continuó como director del Neurological Institute.

J.S.P.